

اثر عصاره هیدروالکلی خرفه (*Potulaca oleracea*) بر بهبود آسیب اکسیداتیو القا شده توسط لیپوپلی ساکارید باکتریایی (LPS) در کبد موش صحرایی

لیلا کریمی زندی، مریم نوربخش نیا^{*}، علی اکبر احسان پور، سمیه رجائیان

گروه زیست شناسی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۷

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۱

چکیده:

زمینه و هدف: استرس اکسیداتیو یک نقش کلیدی در بروز بسیاری از بیماری ها دارد. خرفه حاوی انواع اسیدهای چرب غیر اشباع و ترکیباتی مانند: آلفا-توکوفرول، اسید آسکوربیک و گلوکاتینون می باشد که اثرات آنتی اکسیدانی دارند؛ بنابراین شاید بتواند نقشی موثر جهت پیشگیری و درمان بیماری های مرتبط با استرس اکسیداتیو داشته باشد. جهت بررسی این امر، استرس اکسیداتیو در یک مدل حیوانی از طریق تزریق لیپو ساکارید باکتریایی (LPS) القا گردید. در مرحله بعدی اثر عصاره هیدروالکلی خرفه بر بهبود آسیب اکسیداتیو القا شده توسط LPS در کبد موش های صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: موش های صحرایی نر نژاد ویستار در ۴ گروه قرار گرفتند. عصاره خرفه (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) طی یک دوره ۱۴ روزه از طریق تزریق دهانی (گاواژ) به حیوانات داده شد. (۱۰۰۰ میکرو گرم بر کیلوگرم) LPS به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان از طریق اندازه گیری کاتالاز (CAT)، سوپر اکسید دسموتاز (SOD) و گلوکاتینون ردوکتاز (GR) در بافت کبد گروه های مختلف صورت گرفت. میزان پر اکسیداسیون لیپیدی نیز به عنوان مارکری برای تعیین آسیب اکسیداتیو اندازه گیری شد؛ همچنین مطالعات بافت شناسی نیز صورت گرفت.

یافته ها: LPS موجب تحریک و افزایش فعالیت آنزیم SOD، CAT و کاهش فعالیت GR نسبت به گروه کنترل شد؛ همچنین LPS موجب افزایش مالون دی آلدئید (MDA) کبد شد. از طرفی در گروه پیشگیری عصاره خرفه به صورت معنی داری فعالیت آنزیم های SOD، CAT و GR را نسبت به گروه LPS افزایش داد و باعث کاهش معنی دار MDA نسبت به گروه دریافت کننده LPS گردید.

نتیجه گیری: به نظر می رسد خرفه به علت دارا بودن میزان بالایی از ترکیبات آنتی اکسیدانی می تواند به عنوان یک محصول طبیعی، برای پیشگیری از آسیب و بیماری های ناشی از استرس اکسیداتیو استفاده شود.

واژه های کلیدی: عصاره خرفه، لیپوپلی ساکارید باکتریایی، آسیب اکسیداتیو، کبد، موش صحرایی.

مقدمه:

چرب غیر اشباع امگا ۳، مواد آنتی اکسیدانی و عناصر معدنی متعدد شامل: آهن، مس، منگنز، پتاسیم، کلسیم و فسفر در بخش های مختلف این گیاه وجود دارند. این گیاه سرشار از ترکیبات فنلی، پلی فنلی و مواد آنتی اکسیدان است که مهم ترین ترکیبات آنتی اکسیدان آن شامل: آلفا-توکوفرول، اسید آسکوربیک و گلوکاتینون می باشد. مقدار اسید چرب در برگ های

گیاه خرفه با نام علمی *Portulaca oleracea* (PO) از تیره پرتولاسه بوده و به صورت خودرو در باغچه منازل، کنار جوی ها و در مناطق مرطوب می روید. خرفه به عنوان ضد اسپاسم، ضد تب، شل کننده عضلانی، آنتی اکسیدان، تقویت کننده سیستم ایمنی و در رفع تشنگی کاربرد درمانی دارد. آب، مواد لعابی، پکتین، کربوهیدرات، اسیدهای چرب به ویژه اسیدهای

خرفه ۲/۵-۱/۵ میلی گرم بر کیلوگرم، در ساقه ۰/۹-۰/۶ میلی گرم بر گرم و در دانه ۱۷۰-۸۰ میلی گرم بر گرم است که ۶۰٪ اسیدهای چرب برگ ها و ۴۰٪ اسیدهای دانه، اسید چرب α -لینولنیک می باشد. در بررسی پروفایل اسیدهای چرب دانه های چندین واریته بومی و وارداتی خرفه در استرالیا اسیدهای چرب اصلی موجود در تمام بافت ها اسید لینولنیک (۳)، اسید لینولنیک (۶) و اسید پالمیتیک گزارش شده است (۱).

هر ۱۰۰ گرم ساقه خشک خرفه حاوی ۹۲ گرم آب، ۷/۱ گرم پروتئین، ۴ گرم چربی، ۵/۲ گرم هیدرات های کربن، ۱۰۲ میلی گرم کلسیم، ۲۵۰۰ IU ویتامین A، ۳ میلی گرم تیامین، ۱ میلی گرم ریوفلاوین، ۵ میلی گرم نیاسین و ۲ میلی گرم ویتامین C است (۳،۲). آزمایش های فتوشیمیایی عصاره خرفه نشان داده که این گیاه حاوی ویتامین B1 و A، نورآدرنالین، دوپامین، اسیدهای ارگانیک مثل سینامیک، کافئیک، مالیک، اگزالیک، ستریک و نیز کومارین ها، فلاونوئیدها، گلیکوزیدهای قلبی آنتراکینونی و آلکالوئیدها می باشد (۴،۵).

آزمایش های متعدد نشان داده که خرفه موجب کاهش میزان $\text{TNF-}\alpha$ و اینترکولین-۶ می شود و از این طریق موجب افزایش قدرت بقای سلول های آسیب دیده می شود (۶). خرفه موجب مهار مسیر سیگنالینگ فاکتور هسته ای کاپای بی (NF-kB) توسط $\text{TNF-}\alpha$ و کاهش التهاب تحت تأثیر $\text{TNF-}\alpha$ می گردد؛ همچنین بیان شده که خرفه به طور مؤثری موجب کاهش بیان پروتئین های کموتاتیک اینترلوکین ۸ در سطح مونوسیت ها به صورت وابسته به دوز می شود؛ همچنین خرفه با مهار تولید داخل سلولی گونه های فعال اکسیژن و فاکتور هسته ای کاپای موجب کاهش بیان مولکول های چسبندگی القا شده توسط $\text{TNF-}\alpha$ می شود (۷).

همانطور که ذکر شد خرفه دارای مقادیر بالای آنتی اکسیدان هاست. این گیاه یکی از غنی ترین گیاهان سبز حاوی ویتامین C، α -توکوفرول و گلوکاتیون می باشد. بسیاری از تحقیقات نشان داده اند

که این گیاه با داشتن فعالیت آنتی اکسیدانی قوی مالون دی آلدئید که محصول پر اکسیداسیون لیپیدی و شاخص حضور استرس اکسیداتیو است را به طور مؤثری کاهش می دهد. از طرفی بر اساس تحقیقات این گیاه موجب کاهش سطح اوره، اسید اوریک و کراتینین در کلیه ی رت های تحت استرس اکسیداتیو می شود (۸).

در چین خرفه به عنوان یک داروی ضد باکتری و ضد ویروسی و جهت درمان هپاتیت ویروسی و دیابت استفاده می شود؛ همچنین از آن به عنوان یک عامل ضد سرطان جهت پیشگیری و درمان سرطان هایی همچون: سرطان معده، کولون، پستان، پوست و کبد استفاده می گردد (۹).

استرس اکسیداتیو شرایطی است که در آن تعادل بین تولید رادیکال های آزاد و سطح آنتی اکسیدان ها به طور قابل توجهی مختل می شود. تعداد قابل ملاحظه ای از افراد جامعه از اختلالاتی رنج می برند که التهاب و آسیب های اکسیداتیو عاملی مهم در بروز این اختلالات به شمار می رود و فعال شدن مسیرهای التهاب باعث اختلال در بیان ژن های مختلف، ایجاد رادیکال های فعال اکسیژن و فعال شدن مسیرهای تخریب سلولی می شود. بدن انسان دارای انواع مختلف آنتی اکسیدان ها جهت مقابله با اکسیدان ها و حفظ تعادل بین اکسیدان ها و آنتی اکسیدان ها و جلوگیری از بروز استرس اکسیداتیو می باشد. آنتی اکسیدان هایی مثل سوپر اکسید دسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) جزء اولین خطوط دفاعی بدن در برابر آسیب های اکسیداتیو می باشند (۱۰،۱۱). از آنجایی که کبد بزرگ ترین سم زادی بدن است، بیش ترین آسیب ناشی از القای استرس اکسیداتیو در این اندام نمود، پیدا می کند. ۲ نوع عمده از سلول های عمومی در لوبول های کبد وجود دارد؛ سلول های پارانشیمی و غیر پارانشیمی. ۸۰٪ حجم کبد را سلول های پارانشیمی تشکیل داده و هپاتوسیت نامیده می شوند. سلول های غیر پارانشیمی ۴۰٪ از تعداد کل سلول های کبد را تشکیل می دهند، اما تنها ۶/۵٪ حجم کبد را شامل

می شوند. سلول های آندوتلیال سینوسی کبدی، سلول های کوپفر و سلول های ستاره ای کبدی تعدادی از سلول های غیر پارانشیمی سینوس کبد هستند. در شرایط طبیعی سوخت و ساز هوازی کبد با تولید ثابت پر اکسیدان هایی مانند گونه های فعال اکسیژن همراه می باشد که تعادل را از طریق حذف آن ها به وسیله ی آنتی اکسیدان های خود که از مهم ترین آن ها کاتالاز، سوپر اکسید دسموتاز و آنزیمی های اکسید و احیای گلوکوتایون می باشد، حفظ می کند. در شرایط ایجاد استرس اکسیداتیو گونه های فعال اکسیژن موجب پروکسیداسیون لیپیدها و تولید مالون دی آلدئید می شوند و می توانند با فعال سازی سلول های ستاره ای شکل کبد که کلاژن را سنتز می کنند، سبب ایجاد فیبروز کبدی شوند. از این رو بررسی تغییرات آنتی اکسیدانی و بافت شناسی کبد می تواند شاخص خوبی جهت تشخیص استرس اکسیداتیو باشد (۱۲، ۱۳). با توجه به مطالب ذکر شده بر آن شدیم تا اثرات آنتی اکسیدانی گیاه خرفه را بر روی آسیب های اکسیداتیو در کبد بررسی نماییم.

روش بررسی:

در این مطالعه ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی 220 ± 10 گرم مورد مطالعه قرار گرفته شد. پس از تهیه غذا و تا زمان شروع مطالعات حیوان ها محدودیتی در دریافت آب و مواد غذایی نداشتند. محل نگهداری حیوانات با دوری از صدا، داشتن نور کافی و دمای 22 تا 24 درجه سانتی گراد مطلوب بوده و تمامی اقدامات به کار رفته در این مطالعه با اصول استاندارد و اخلاقی مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی منطبق بود.

لیپو پلی ساکارید باکتریایی جهت القای التهاب، گلوکوتایون دی سولفید و نیکوتین آمید آدنین دی نیکلوتید فسفات جهت انجام آزمایشات بیوشیمیایی و اندازه گیری آنزیم ها از شرکت sigma خریداری شد. و عصاره خرفه نیز در آزمایشگاه تهیه گردید.

گیاه خرفه از مزارع اطراف شهرستان مبارکه استان اصفهان در تاریخ ۹۲/۳/۱۲ جمع آوری شد. جنس و گونه این گیاه مورد تأیید آقای دکتر سعیدی، متخصص بیوسیستماتیک گیاهی قرار گرفت. به منظور عصاره گیری، ابتدا برگ ها و ساقه گیاه خرفه جدا شد و پس از شستشو در سایه و زیر باد کولر خشک گردید. به منظور افزایش سطح تماس گیاه با حلال گیاه خشک شده توسط آسیاب برقی به صورت پودر درآورده شد. ۱۵۰ گرم از گیاه خشک شده توسط ترازوی حساس وزن گردید و در ارلن یک لیتری ریخته شد و به آن ۶۰۰ میلی لیتر الکل اتیلیک ۹۶٪ اضافه گردید، به گونه ای که سطح گیاه به طور کامل پوشانیده شد.

ارلن به مدت ۲۴ ساعت بر روی دستگاه تکان دهنده قرار گرفت؛ سپس محلول توسط کاغذ صافی و قیف بوختر صاف شد و عصاره آن در ظرف جداگانه ای نگهداری شد. در مرحله بعد، به تفاله ی باقی مانده الکل ۷۰٪ اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت بر روی دستگاه تکان دهنده قرار گرفت. پس از صاف شدن، این محلول را با محلول صاف شده مرحله اول مخلوط نموده و در دستگاه تقطیر در خلا در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد و با سرعت چرخش ۷۰ دور در دقیقه تا ۱/۳ حجم اولیه تغلیظ شد. در مرحله بعد به منظور خشک شدن عصاره آن را در ظروف مخصوص ریخته و در آون با دمای ۴۵ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت گذاشته شد.

موش ها قبل از شروع مطالعه وزن شده و در ۴ گروه به صورت تصادفی تقسیم شدند. دوره مطالعه ۱۴ روز بود و در طول دوره آزمایش، حیوان ها محدودیتی برای دریافت آب و مواد غذایی نداشتند. محل و شرایط نگهداری برای تمامی گروه ها یکسان بود. موش ها طبق شرایط آزمایشگاهی در گروه های زیر تقسیم بندی شدند:

گروه ۱: این گروه به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد. سرم فیزیولوژیک به مدت ۱۴ روز با روش گاواژ به موش ها تزریق شد.

گروه ۲: این گروه دریافت کننده لیپوساکارید باکتریایی (LPS) بودند. (۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) LPS به صورت دوز حاد مطابق با پروتکل گرفته شده از مقاله مربوطه، ۶ ساعت قبل از خارج نمودن کبد به صورت داخل صفاقی به موش ها تزریق شد (۱۴).

گروه ۳: این گروه دریافت کننده عصاره هیدروالکلی خرفه با دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم با روش گاواژ به مدت ۱۴ روز مورد تیمار قرار گرفتند (۱۶، ۱۵، ۱).

گروه ۴: این گروه به عنوان گروه پیشگیری در نظر گرفته شد. در این گروه رت ها، عصاره هیدروالکلی خرفه با دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم را به روش گاواژ دریافت نمودند و (۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم LPS، ۶ ساعت قبل از خارج شدن کبد به صورت داخل صفاقی به موش ها تزریق شد.

در نهایت در روز چهاردهم، رت ها ابتدا به وسیله کلروفرم ۷۰٪ قربانی شدند؛ سپس کبد آن ها خارج شده به ۲ قسمت تقسیم شد. یک قسمت ابتدا درون ازت مایع قرار داده شده و سپس به فریز ۷۰- درجه سانتی گراد جهت سنجش آنزیمی انتقال داده شد. قسمت دیگر بلافاصله جهت تهیه نمونه های بافت شناسی در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. نمونه های بافتی پس از فیکس شدن برش داده شد و با روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین رنگ آمیزی شد.

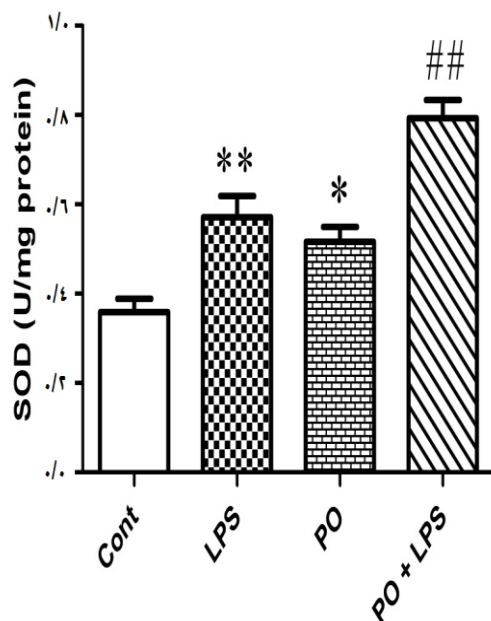
میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز از طریق اندازه گیری توانایی آن در جلوگیری از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم کلراید (NBT) اندازه گیری شد. به این منظور بافت کبد بر روی یخ هموژن گردید. بافر استخراج حاوی فسفات بافر ۵۰ میلی مولار در PH: ۷/۸ تهیه شد. ۲ میلی لیتر از بافر استخراج به بافت هموژن اضافه و محلول به دست آمده به وسیله ی سانتریفیوژ یخچال دار در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. بافر واکنش حاوی فسفات بافر ۵۰ میلی مولار با PH: ۷/۸، NBT ۷۵ میکرومولار، ریوفلاوین ۲ میکرومولار و L- متیونین ۱۳ میلی مولار آماده و مقدار

۱۵۰۰ میکرولیتر از آن به ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی اضافه شد، محلول به دست آمده به مدت ۳۰ دقیقه در معرض نور یکنواخت قرار گرفت. جذب محلول در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. یک واحد فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، مقدار آنزیمی در نظر گرفته می شود که می تواند تا ۵۰٪ مانع از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم کلراید گردد. فعالیت ویژه آنزیم به صورت تعداد واحدهای آنزیم در میلی گرم پروتئین گزارش شد (۱۷).

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میزان تجزیه شدن H_2O_2 و با استفاده از ضریب خاموشی $43/6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ تعیین گردید. به این منظور بافت کبد بر روی یخ هموژن شد. بافر استخراج حاوی بافر فسفات سالین ۵۰ میلی مولار آماده و مقدار ۱۵۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج به هموژن اضافه و در سانتریفیوژ یخچال دار در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. بافر واکنش حاوی فسفات سالین ۵۰ میلی مولار و هیدروژن پروکسید ۱۰ میلی مولار تهیه شده و مقدار ۶۰۰ میکرولیتر از آن به ۵ میکرولیتر از عصاره آنزیمی اضافه شد. جذب محلول در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت شد. فعالیت آنزیمی کاتالاز به صورت تعداد ماکرومولکول H_2O_2 تجزیه شده در دقیقه در میلی گرم پروتئین گزارش شد (۱۸).

میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز بر اساس کاهش جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر، به علت اکسیداسیون نیکوتین آمید دی نوکلئوتید فسفات (NADPH) در ازای تبدیل ۱ مولکول گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) به ۲ مولکول گلوتاتیون احیا شده (G-S)، برآورد می شود. به این منظور، ۲ میکرولیتر بافر استخراج حاوی فسفات بافر ۱۰۰ میلی مولار با PH: ۷ تهیه و به هموژن بافت اضافه شد؛ پس از سانتریفیوژ در دمای ۴ درجه سانتی گراد و با دور ۴۰۰۰، مقدار ۴۵۰ میکرولیتر از بافر واکنش حاوی فسفات بافر ۱۰۰ میلی مولار با PH: ۷، GSSG ۱ میلی مولار، NADPH ۰/۱

نامساعد القا شده توسط LPS را دارد. از طرفی در گروه دریافت کننده عصاره خرفه نیز سطح SOD به صورت معنی داری نسبت به کنترل افزایش یافت ($P=0/04$)؛ همچنین در گروه پیشگیری مشاهده شد که خرفه به صورت معنی داری سطح SOD را نسبت به گروه LPS افزایش داده است ($P=0/003$) (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱: نمودار میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز در کبد

LPS باعث تحریک و افزایش معنی دار SOD نسبت به گروه کنترل گردیده، PO نیز سطح SOD را در کبد رت های سالم بالا برده، از طرفی در گروه پیشگیری میزان SOD نسبت به گروه LPS افزایش معنی داری نشان می دهد. مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده اند ($P \leq 0/05$ ، $P \leq 0/01$ ، $P \leq 0/001$ در مقایسه با گروه کنترل، $P \leq 0/001$ ## در مقایسه با گروه LPS و $N=6$).

در آزمایشات مربوط به تأثیر LPS و عصاره خرفه بر میزان فعالیت آنزیم CAT نیز آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که در سطح $P \leq 0/05$ اختلاف بین ۴ گروه مورد مطالعه معنی دار بود ($F(3,20)=20/42$ ، $P=0/0001$). مقایسه بین جفت گروه ها نشان داد که تزریق LPS باعث افزایش معنی دار SOD نسبت به گروه کنترل گردیده است ($P=0/004$) که نشان دهنده آن است که کبد با افزایش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان SOD سعی در مبارزه با شرایط

میلی مولار و EDTA ۰/۵ میلی مولار به ۵ میکرولیتر از عصاره آنزیمی اضافه شد. جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت شد (۱۹).

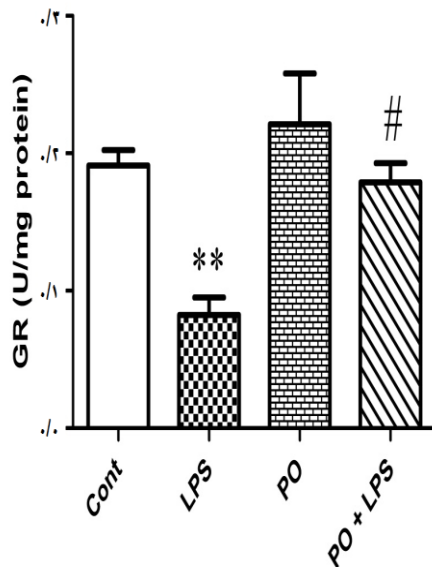
به منظور سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، غلظت مالون دی آلدئید به عنوان محصول نهایی این واکنش در نظر گرفته و سنجیده شد. به این منظور ۲ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۵٪ به بافت هموژن اضافه شد. مخلوط در دور ۵۰۰۰ و به مدت ۲۵ دقیقه ساترifiوژ شد؛ سپس تری کلرواستیک اسید ۲۰٪ حاوی تیوباربیتوریک اسید به محلول رویی اضافه شد. لوله های آزمایش به مدت ۲۵ دقیقه در بن ماری با دمای ۹۵ سانتی گراد قرار گرفت و بلافاصله در یخ سرد شد. مجدداً در دور ۵۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه ساترifiوژ شد. جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد. میزان MDA با استفاده از ضریب خاموشی $1/56 \times 10^5 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ محاسبه شد (۲۰).

محتوی پروتئین ها با روش برادفورد با از استفاده از آلبومین سرم گاوی (BSA) در غلظت های ۵۰ تا ۱۰۰ میکروگرم به عنوان استاندارد تعیین شد. آنالیز آماری با روش آنالیز واریانس یک طرفه و روش متعاقب توکی- کرامر صورت گرفت. در تمامی آزمایش ها $P \leq 0/05$ به عنوان سطح معنی دار بودن در نظر گرفته شد. جهت آنالیز آماری از نرم افزار SPSS استفاده گردید.

یافته ها:

در آزمایشات مربوط به تأثیر LPS و عصاره خرفه بر میزان فعالیت آنزیم SOD، آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که در سطح $P \leq 0/05$ اختلاف بین ۴ گروه مورد مطالعه معنی دار بود ($F(3,20)=21/85$ ، $P=0/0001$). مقایسه بین جفت گروه ها نشان داد که تزریق LPS باعث افزایش معنی دار SOD نسبت به گروه کنترل گردیده است ($P=0/004$) که نشان دهنده آن است که کبد با افزایش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان SOD سعی در مبارزه با شرایط

شد که خرفه به صورت معنی داری سطح GR را نسبت به گروه LPS افزایش داده است ($P=0/02$) (تصویر شماره ۳).



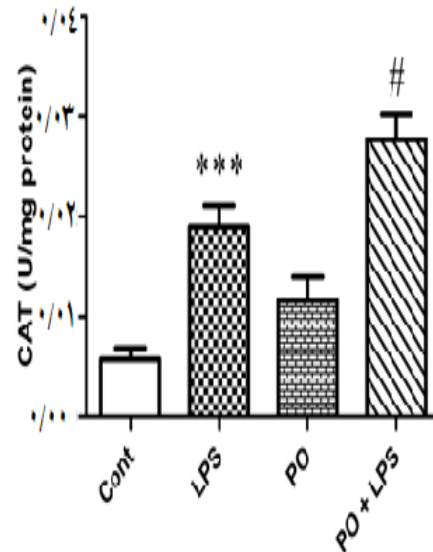
نمودار شماره ۳: نمودار میزان فعالیت آنزیم گلوکوتایون

ردوکتاز در کبد

LPS باعث کاهش معنی دار GR نسبت به گروه کنترل گردید، از طرفی در گروه پیشگیری، خرفه باعث افزایش معنی دار GR نسبت به گروه LPS گردید. مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده اند. ($P \leq 0/01$ *** در مقایسه با گروه کنترل، $P \leq 0/05$ # در مقایسه با گروه LPS و $N=6$).

در آزمایشات مربوط به تأثیر LPS و عصاره خرفه بر میزان فعالیت آنزیم MDA نیز آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که در سطح $P \leq 0/05$ اختلاف بین ۴ گروه مورد مطالعه معنی دار بود ($\{P=0/0001, F(20,3)=19/78\}$). مقایسه بین جفت گروه ها نشان داد که تزریق LPS باعث افزایش معنی دار MDA نسبت به گروه کنترل گردیده است ($P=0/0001$). از طرفی در گروه پیشگیری مشاهده شد که خرفه به صورت معنی داری سطح MDA را نسبت به گروه LPS کاهش داده است ($P=0/003$) (نمودار شماره ۴).

است ($P=0/001$) که نشان دهنده آن است که کبد با افزایش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان CAT سعی در مبارزه با شرایط نامساعد القا شده توسط LPS را دارد. از طرفی در گروه پیشگیری مشاهده شد که خرفه به صورت معنی داری سطح CAT را نسبت به گروه LPS افزایش داده است ($P=0/03$) (نمودار شماره ۲).

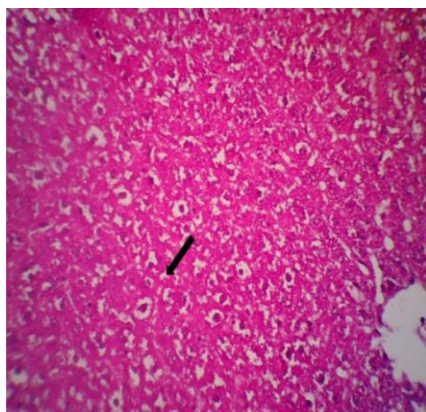


نمودار شماره ۲: نمودار میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در کبد

LPS باعث تحریک و افزایش معنی دار CAT نسبت به گروه کنترل گردیده، PO نیز سطح CAT را در کبد رت های سالم بالا برد، از طرفی در گروه پیشگیری میزان CAT نسبت به گروه LPS افزایش معنی داری نشان داد. مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده اند ($P \leq 0/001$ *** در مقایسه با گروه کنترل، $P \leq 0/05$ # در مقایسه با گروه LPS و $N=6$).

در آزمایشات مربوط به تأثیر LPS و عصاره خرفه بر میزان فعالیت آنزیم GR، آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که در سطح $P \leq 0/05$ اختلاف بین ۴ گروه مورد مطالعه معنی دار بود ($\{P=0/001, F(20,3)=7/72\}$). مقایسه بین جفت گروه ها نشان داد که تزریق LPS باعث کاهش معنی دار GR نسبت به گروه کنترل گردیده است ($P=0/01$). از طرفی در گروه پیشگیری مشاهده

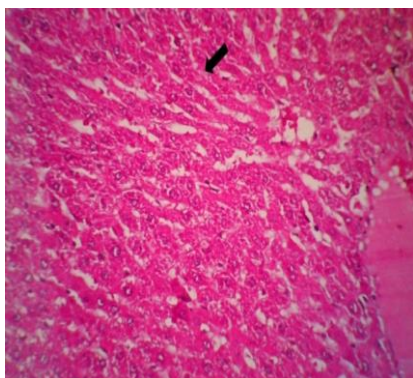
ب) بافت کبد در گروه LPS دچار تخریب شد. سلول ها از حالت کشیده و طبیعی خود خارج شده اند. در اطراف هسته فضاهای خالی دیده می شود که نشان دهنده دژنره شدن سلول و جا به جایی هسته از موقعیت طبیعی خود است. ردیف های سلولی از حالت شعاعی و منظم خود خارج شدند که نشان دهنده اثرات تخریبی LPS می باشد (تصویر شماره ۲).



تصویر شماره ۲: بافت کبد در گروه LPS

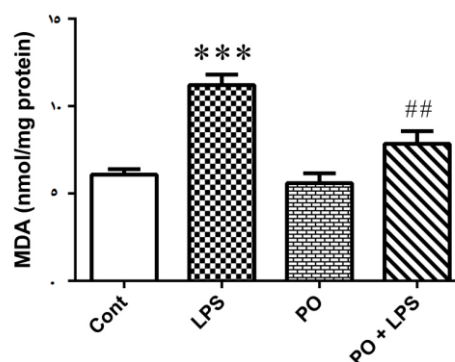
عکس با بزرگ نمایی $40\times$ تهیه شد. نمونه سلول های تخریب شده با پیکان مشخص شد.

ج) بافت کبد در گروه خرفه سالم و طبیعی بود. شکل کشیده سلول ها حفظ شده است، هسته در مرکز سلول قرار دارد. هیچ گونه فضایی در سلول ها دیده نمی شود. سلول ها منظم و شعاعی به دور ورید قرار گرفته اند.



تصویر شماره ۳: بافت کبد در گروه تحت تیمار با خرفه

عکس با بزرگ نمایی $40\times$ تهیه شد. سلول های کبدی در حالت طبیعی خود مشاهده شد.

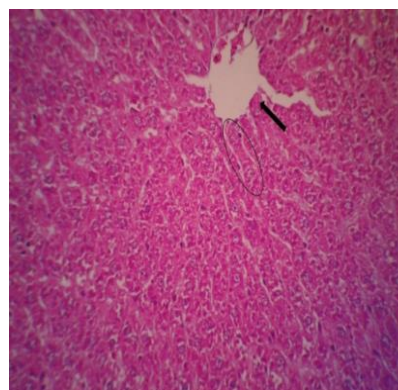


نمودار شماره ۴: نمودار تغییر سطح مالون دی آلدئید در کبد

LPS باعث افزایش معنی دار MDA نسبت به گروه کنترل گردیده، از طرفی در گروه پیشگیری، خرفه باعث کاهش معنی دار MDA نسبت به گروه LPS گردید. مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده اند. ($P \leq 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل، $P \leq 0.01$ در مقایسه با گروه LPS و $N=6$).

نتایج مطالعات بافت شناسی در گروه های مختلف نیز در ذیل آمده است:

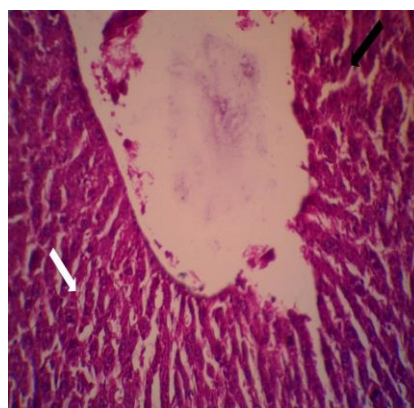
الف) بافت کبد در گروه کنترل سالم و طبیعی بود. شکل کشیده سلول ها حفظ شده است، هسته در مرکز سلول قرار دارد. هیچ گونه فضایی در سلول ها دیده نمی شود. سلول ها به صورت منظم و شعاعی به دور ورید قرار گرفته اند (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: بافت کبد در گروه کنترل

عکس با بزرگ نمایی $400\times$ تهیه شد. نمونه سلول های طبیعی در شکل مشخص شده است. پیکان نشان دهنده ورید پورت می باشد.

د) بافت کبد در گروه پیشگیری مقداری تخریب را نشان می دهد، اما بسیاری از سلول های کبد در این گروه شکل طبیعی و سالم خود را حفظ نموده اند که نشان می دهد، خرفه توانسته تا حد زیادی از اثرات تخریبی LPS جلوگیری نماید (تصویر شماره ۴).



تصویر شماره ۴: بافت کبد در گروه پیشگیری تیمار شده با خرفه و LPS

عکس با بزرگ نمایی $40\times$ تهیه شد. مقداری تخریب را در بافت کبد مشاهده می نمایم که به وسیله ی پیکان سیاه رنگ مشخص شده است. سلول های طبیعی و سالم با پیکان سفید نمایش داده شده اند.

بحث:

پاسخ های التهابی و استرس اکسیداتیو ناشی از آن نقشی مهم در ایجاد بیماری های کبد دارد. التهاب کبدی با فعال شدن سلول های ایمنی چون نوتروفیل ها، سلول های ستاره ای و کوپفر موجب راه اندازی مسیرهای تولید گونه های فعال اکسیژن می شود. LPS با اثر بر رستپورهای شبه تول (TLR4) که بر سطح بسیاری از سلول های ایمنی قرار دارد، موجب راه اندازی مسیرهای التهابی و در نتیجه تولید استرس اکسیداتیو می شود. رستپورهای شبه تول موجب فعال سازی نوتروفیل ها و دیگر سلول های ایمنی کبد می شود. این سلول ها با به کارگیری آنزیم NADH اکسیداز خود جهت مقابله با عوامل بیماری زا موجب تولید سوپراکسید می شوند (۲۱). Nowak و همکاران نشان دادند که تزریق LPS موجب التهاب و تخریب بافت کبد می شود (۲۲)؛ همچنین

Stigger و همکاران نشان دادند که تزریق دوز حاد LPS موجب افزایش سطح TNF- α و IL-6 می گردد (۲۳). نتایج این تحقیق نشان داد که تزریق حاد و سیستمیک LPS موجب افزایش تخریب بافتی در کبد و افزایش سطح مالون دی آلدئید که مارکری جهت وجود استرس اکسیداتیو است، می گردد. Swarnkar و همکاران نشان دادند که میزان مالون دی آلدئید در موش های تحت تیمار LPS به صورت معنی داری افزایش می یابد (۲۴). Kaur و همکاران گزارش کردند که تزریق تک دوز LPS موجب افزایش فاکتورهای التهابی و در پی آن تولید نیتریک اکساید می شود. این ترکیبات با اثر بر لیپیدهای غیر اشباع غشا موجب پر اکسیداسیون آن ها شده و سطح مالون دی آلدئید را در جوندگان مورد آزمایش، افزایش می دهد (۲۵). در این مطالعه نشان داده شد که دریافت خرفه قبل از دریافت LPS باعث کاهش میزان مالون دی آلدئید تحت تأثیر LPS در کبد می گردد. رفیعی و همکاران نشان دادند که سطح مالون دی آلدئید در بیماران اسکیزوفرنی مصرف کننده خرفه کاهش می یابد (۲۶). در شرایط فیزیولوژیک سیستم آنتی اکسیدانی با ایجاد تعادل بین میزان تولید اکسیدان ها و برداشت آن ها مانع از پروکسیداسیون زیان بار لیپیدهای غشایی و در نتیجه تولید مالون دی آلدئید می شود. از آنجایی که خرفه سرشار از ترکیبات آنتی اکسیدانی است، مصرف آن می تواند موجب تقویت سیستم آنتی اکسیدانی و در نتیجه کاهش میزان مالون دی آلدئید شود.

اندازه گیری تغییر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان می تواند در تشخیص بروز استرس و پیشنهاد راه کارهایی جهت اصلاح یا جلوگیری از بروز استرس بسیار کارآمد باشد. مطالعات نشان می دهد که فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز در شرایط بروز استرس افزایش می یابد که این افزایش بر اثر فعالیت سلول های ایمنی موجود در کبد می باشد. YouGuo و همکاران نشان دادند که ترکیبات فلاونویدی موجود در خرفه دارای خاصیت سوپر اکسیدزدایی می باشد که این گندزدایی به غلظت ترکیبات فنولی و موقعیت گروه های هیدروکسیل بستگی دارد (۲۷).

رازی نژاد و همکاران گزارش کردند که فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز در سرم رت های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین به صورت معنی داری افزایش می یابد که این افزایش در اثر تولید گونه های فعال اکسیژن ناشی از فعالیت میکروگلیاهای مغزی، نوتروفیل ها، گلبول های قرمز موجود در خون و سلول های ستاره ای شکل کبد می باشد (۲۸). از آنجایی که آنزیم سوپر اکسید دسموتاز اولین خط دفاعی آنتی اکسیدانی در بدن است. این افزایش در فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز منطقی است. در این پژوهش نیز نشان داده شد که میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز در کبد گروه های دریافت کننده LPS افزایش پیدا کرده است؛ همچنین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز در گروه های دریافت کننده عصاره هیدرو الکلی خرفه پیش از تزریق LPS نیز افزایش یافت. به نظر می رسد خرفه با کمک به افزایش فعالیت سوپر اکسید دسموتاز توانسته که در پاکسازی بدن از رادیکال های تولید شده به وسیله ی LPS کمک نماید که البته مکانیسم اثر خرفه در این رابطه مشخص نیست. در مطالعه ای که به منظور بررسی اثر محافظتی خرفه در برابر آسیب اکسیداتیو تولید شده با رتون صورت گرفت، نشان داده شد که فعالیت آنزیم در گروه های دریافت کننده خرفه افزایش می یابد. مطالعات بافت شناسی نشان داد که خرفه توانست تا حد زیادی از آسیب های القا شده توسط LPS در کبد جلوگیری کند و این مشاهدات تأثیر خرفه بر فعالیت آنتی اکسیدانی را تأیید می کند.

در پژوهش حاضر همچنین نشان داده شد که فعالیت آنزیم کاتالاز در کبد گروه های دریافت کننده LPS نسبت به گروه کنترل افزایش یافت؛ همچنین فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه های پیشگیری با خرفه افزایش پیدا کرد. از آنجایی که کاتالاز مسئول تخریب هیدروژن پروکسید تولیدی توسط آنزیم سوپر اکسید دسموتاز و دیگر منابع است؛ بنابراین با افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز فعالیت این آنزیم نیز افزایش می یابد. به نظر می رسد خرفه توانسته است میزان فعالیت آنزیم

کاتالاز را افزایش دهد. علی و همکاران گزارش کردند که خرفه میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را در رت های مبتلا به کبد فیروزه را افزایش می دهند (۲۹). آشتیانی و همکاران نیز گزارش کردند که خرفه فعالیت آنزیم کاتالاز در رت های مبتلا به هیپرکلسترولمی را افزایش می دهد (۵)؛ همچنین دخیل و همکاران طی تحقیقی بر روی خاصیت آنتی اکسیدانی خرفه نشان دادند که خرفه فعالیت آنزیم کاتالاز را در تمامی اندام های رت افزایش می دهد (۸). احتمال می رود که خرفه با احیای آنزیم های آسیب دیده موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شده باشد. یکی دیگر از مکانیسم های احتمالی در این زمینه افزایش بیان ژن این آنزیم می باشد. از طرفی استرس اکسیداتیو موجب خالی شدن ذخیره گلوکاتیون در سلول می شود. نشان داده شده که با بروز استرس در بدن میزان گلوکاتیون احیا کاهش می یابد، احتمال داده شده که این کاهش در نتیجه نقص در سنتز، استفاده بیش از حد و تخریب گلوکاتیون احیا باشد. گلوکاتیون احیا به وسیله ی گلوکاتیون پروکسیداز به گلوکاتیون اکسید تبدیل می شود و طی این واکنش هیدروژن پروکسید به آب و اکسیژن تبدیل می شود؛ سپس گلوکاتیون اکسید شده توسط گلوکاتیون ردوکتاز و با استفاده از NADPH احیا می شود (۳۰). در مطالعه حاضر نشان داده شد که میزان فعالیت گلوکاتیون ردوکتاز در گروه های دریافت کننده LPS نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافت. این کاهش فعالیت احتمالاً به علت خالی شدن سلول ها از ذخایر گلوکاتیون احیا جهت پاکسازی رادیکال های آزاد تولید شده می باشد. از طرفی ممکن است که تمامی NADPH سلولی بر اثر مصرف بیش از حد توسط آنزیم گلوکاتیون ردوکتاز، اکسید شده و در نتیجه فعالیت آنزیم گلوکاتیون ردوکتاز مهار شود. در این رابطه القریشی و همکاران نشان دادند که تولید استرس اکسیداتیو توسط رتون موجب کاهش گلوکاتیون احیا سلول و همچنین کاهش فعالیت گلوکاتیون ردوکتاز می شود (۳۱). حاجی غلامعلی و همکاران نشان دادند که استرس تولید شده بر اثر دیازینون موجب کاهش مقدار گلوکاتیون احیا می شود (۳۲).

در این مطالعه همچنین مشاهده شد که فعالیت گلوکوتایون ردوکتاز در گروه پیشگیری به صورت معنی داری نسبت به گروه دریافت کننده LPS افزایش یافت. تصور می شود که خرفه به دلیل دارا بودن مقادیر زیادی از گلوکوتایون می تواند گلوکوتایون مصرفی در سلول را جایگزین نماید. دخیل و همکاران نشان دادند که عصاره خرفه موجب افزایش گلوکوتایون احیا و فعالیت آنزیم گلوکوتایون ردوکتاز می شود (۸).

آسیب اکسیداتیو القا شده توسط لیپوپلی ساکارید باکتریایی در کبد است و این امر احتمالاً به دلیل وجود سطح بالای ترکیبات آنتی اکسیدانی در این گیاه می باشد. به نظر می رسد خرفه به علت دارا بودن میزان بالایی از ترکیبات آنتی اکسیدانی می تواند به عنوان یک محصول طبیعی، برای پیشگیری از آسیب و بیماری های ناشی از استرس اکسیداتیو استفاده شود.

تشکر و قدردانی:

این تحقیق در گروه زیست شناسی دانشگاه اصفهان و با حمایت مالی بخش تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان انجام گرفت.

نتیجه گیری:

در مجموع برای اولین بار در این تحقیق نشان داده شده که عصاره خرفه دارای اثر مثبت بر بهبود

منابع:

1. Changizi-Ashtiyani S, Zarei A, Taheri S, Rasekh F, Ramazani M. The effects of *Portulaca oleracea* alcoholic extract on induced hypercholesterolemia in rats. *Zahedan J Res Med Sci*. 2013; 15(6): 34-9.
2. Liu L, Howe P, Zhou YF, Xu ZQ, Hocart C, Zhan R. Fatty acids and beta-carotene in australian purslane (*Portulaca oleracea*) varieties. *J Chromatogr A*. 2000; 893(1): 207-13.
3. Souri E, Amin G, Farsam H. Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. *Daru J Pharmacy Sci*. 2008; 16(2): 83-7.
4. Yang Z, Liu C, Xiang L, Zheng Y. Phenolic alkaloids as a new class of antioxidants in *Portulaca oleracea*. *Phytother Res*. 2009; 23(7): 1032-5.
5. Ashtiani SG, Zarei A, Taheri S. Alcoholic extract of *Portulaca oleracea* on hypercholesterolaemia induced in rats. *J Med Sci*. 2013.
6. Xiao FY, Lu FE, Xu LJ. [Effect of different parts of *Portulaca oleracea* on the levels of TNF-alpha and IL-6 in the supernatant of cultured adipose cell]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2005; 30(22): 1763-6.
7. Lee AS, Kim JS, Lee YJ, Kang DG, Lee HS. Anti-TNF-alpha activity of *Portulaca oleracea* in vascular endothelial cells. *Int J Mol Sci*. 2012; 13(5): 5628-44.
8. Dkhil MA, Abdel Moniem A, Al-Quraishy S, Saleh RA. Antioxidant effect of purslane (*Portulaca oleracea*) and its mechanism of action. *J Med Plant Research*. 2011; 5: 1589-63.
9. Aljeboori KH, Rubai O, Nahi O, Yassen N. Study of pathological, effects of crude extract of *Portulaca oleracea* L. in the albino mice organs. *Int J Tech Res Appl*. 2014; 2(1): 29-32.
10. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem*. 2006; 97(6): 1634-58.
11. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002; 82(1): 47-95.
12. Summerfield J. Hepatology: a textbook of liver disease. *Gut*. 1984; 25(4): 432.
13. Ostad Rahimi A, Mahdavi R, Somi MH, Tarzamani MK. Oxidative stress-related parameters and antioxidant status in non-alcoholic fatty liver disease patients. *Iran J Endocrinol Metab*. 2011; 12(5): 493-9.
14. Kaur G, Tirkey N, Bharrhan S, Chanana V, Rishi P, Chopra K. Inhibition of oxidative stress and cytokine activity by curcumin in amelioration of endotoxin-induced experimental hepatotoxicity in rodents. *Clin Exp Immunol*. 2006; 145(2): 313-21.

15. Radhakrishnan R, Zakaria MN, Islam MW, Chen HB, Kamil M, Chan K, et al. Neuropharmacological actions of *Portulaca oleraceae* L. v. *sativa* (Hawk). J Ethnopharmacol. 2001; 76(2): 171-6.
16. Hozayen W, Bastawy M, Elshafeey H. Effects of aqueous purslane (*Portulaca oleracea*) extract and fish oil on gentamicin nephrotoxicity in Albino rats. Nature Sci. 2011; 9: 47-62.
17. Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Anal Biochem. 1971; 44(1): 276-87.
18. Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 1984; 105: 121-6.
19. Schadendorf D, Jurgovsky K, Kohlms CM, Czarnetzki BM. Glutathione and related enzymes in tumor progression and metastases of human melanoma. J Invest Dermatol. 1995; 105(1): 109-12.
20. De Sa-Nakanishi AB, Soares AA, Natali MR, Comar JF, Peralta RM, Bracht A. Effects of the continuous administration of an *Agaricus blazei* extract to rats on oxidative parameters of the brain and liver during aging. Molecules. 2014; 19(11): 18590-603.
21. Greenhalgh SN, Thompson AI, Henderson NC, Iredale JP. Oxidative Stress and Liver Inflammation. Studies on Hepatic Disorders: Springer. 2015. 123-47.
22. Nowak M, Gaines GC, Rosenberg J, Minter R, Bahjat FR, Rectenwald J, et al. LPS-induced liver injury in D-galactosamine-sensitized mice requires secreted TNF-alpha and the TNF-p55 receptor. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2000; 278(5): R1202-9.
23. Stigger F, Lovatel G, Marques M, Bertoldi K, Moyses F, Elsner V, et al. Inflammatory response and oxidative stress in developing rat brain and its consequences on motor behavior following maternal administration of LPS and perinatal anoxia. Int J Dev Neurosci. 2013; 31(8): 820-7.
24. Swarnkar S, Goswami P, Kamat PK, Patro IK, Singh S, Nath C. Rotenone-induced neurotoxicity in rat brain areas: a study on neuronal and neuronal supportive cells. Neuroscience. 2013; 230: 172-83.
25. Kaur G, Tirkey N, Chopra K. Beneficial effect of hesperidin on lipopolysaccharide-induced hepatotoxicity. Toxicology. 2006; 226(2-3): 152-60.
26. Rafeie L, dehkordi F. Effect of Purslane on psychiatric symptoms and levels of malondialdehyde patients With chronic schizophrenia. Sci J Kurdistan Univ Med Sci. 2013; 18(4): 28-34.
27. YouGuo C, ZongJi S, XiaoPing C. Evaluation of free radicals scavenging and immunity-modulatory activities of Purslane polysaccharides. Int J Biol Macromol. 2009; 45(5): 448-52.
28. Rasinezhad KH, Nakhei A, Taheri M. Increased serum enzymes superoxide dismutase and catalase in streptozotocin-induced diabetic rats. J Clin Lab Immunol Sci. 2014; 7(4): 62-6.
29. Ali SI, Said MM, Hassan EK. Prophylactic and curative effects of purslane on bile duct ligation-induced hepatic fibrosis in albino rats. Ann Hepatol. 2011; 10(3): 340-6.
30. Silva AAd, Gonçalves RC. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. Cienc Rural. 2010: 994-1002.
31. Al-Quraishy S, Dkhil MA, Moneim AEA. Protective effects of *Portulaca oleracea* against rotenone mediated depletion of glutathione in the striatum of rats as an animal model of Parkinson's disease. Pest Biochem Physiol. 2012; 103(2): 108-14.
32. Gh HM, Jafari M, Hosseini RH. Evaluation of biomarkers of oxidative stress in liver of rats after exposure acute doses of diazinon. J Qazvin Univ Med Sci. 2012; 4.

Effect of hydro-alcoholic *Portulaca oleracea* extract on oxidative damage induced by bacterial Lipopolysaccharide (LPS) in liver of rat

Karimizandi L, Noorbakhshnia M*, Ehsanpor AA, Rajaeyan S

Biology Dept., University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran.

Received: 22/Dec/2015 Accepted: 27/Jan/2016

Background and aim: Oxidative stress has a key role in the pathogenesis of many diseases. *Portulaca oleracea* (PO) is rich in unsaturated fatty acids and compounds such as: α -Tocopherole, Ascorbic acid and Glutathione, which have anti-oxidative effects. So, it might play an effective role in prevention and treatment of diseases related to oxidative stress. In order to test this, oxidative stress was induced by injection of LPS (bacterial Lipopolysaccharide) in an animal model. At the next step, improvement effect of hidro-alcoholic extract of PO was assessed on oxidative damage induced by LPS in liver of rats.

Methods: Male wistar rats were divided into 4 groups. Animals received PO extract (400 mg/kg) in 14 days via oral administration (gavage). LPS (1000 μ g/kg) was injected Intra-peritoneally. The antioxidant enzymes activity was determined by measuring catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione Reductase (GR). Moreover, lipid peroxidation as a marker of oxidative damage was measured. Also, histological studies were performed.

Results: LPS stimulated and increased the activity of SOD and CAT but reduced the activity of GR with respect to control group. Also, LPS increased malondialdehyde (MDA) in liver. Furthermore, PO at prevention group significantly increased SOD, CAT and GR and decreased MAD with respect to LPS group.

Conclusions: It seems PO due to high level of antioxidants compounds can be used as a natural product, for the prevention of damages and diseases caused by oxidative stress.

Keywords: *Portulaca oleracea* extract, Bacterial Lipopolysaccharide, Oxidative Damage, Liver, Rat.

Cite this article as: Karimizandi L, Noorbakhshnia M, Ehsanpor AA, Rajaeyan S. Effect of hydro-alcoholic *Portulaca oleracea* extract on oxidative damage induced by bacterial Lipopolysaccharide (LPS) in liver of rat. J Shahrekord Univ Med Sci. 2016; 17(Suppl): 124-135.

*Corresponding author:

Biology Dept., University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran. Tel: 00989125273228,
E-mail: mnoorbakhshnia@yahoo.com